

氏 名	清家 泰介
学 位 の 種 類	博士 (理学)
学 位 記 番 号	第 5998 号
学位授与年月日	平成 26 年 3 月 24 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当者
学 位 論 文 名	Creation of the Novel Reproductive Group Isolated from Wild-type Populations by Manipulating Sex Pheromone and its Receptor Gene (性フェロモンと受容体の遺伝子操作による野生型生殖群から隔離された新規生殖群の創出)
論文審査委員	主査 教 授 中村 太郎 副査 教 授 宮田 真人 副査 教 授 寺北 明久 副査 特任教授 下田 親

論 文 内 容 の 要 旨

同所的もしくは異所的に棲む単一の生物種の個体が互いに交配できなくなる生殖隔離が種分化の原因として有力である。性フェロモンの研究では、ガをはじめとする昆虫の研究がよく知られており、フェロモン分子が遺伝的変異により変化して生殖隔離されるという仮説が提唱されている。昆虫での解析は 1)受容体が同定されていないものが多い、2)フェロモンの化学構造が複雑である、3)構造の異なる分子の混合比が異性の刺激に重要である、などの複雑さに伴う困難がある。そこで私は真核モデル微生物である分裂酵母 *Schizosaccharomyces pombe* を用いて、この仮説を証明しようと試みた。本研究ではフェロモンと受容体に人為的に突然変異を導入し、野生型ペアとは交配できない新規の交配型ペアの創出に成功した。

分裂酵母は 2 つの性、接合型 M と P を持ち、異性細胞間の接合にはペプチド・フェロモンが重要な役割を演じている。そこで私は、1)フェロモン M-factor の一次構造を変化させる、2)受容体 Map3 (Gタンパク質共役型受容体)にも変異を導入し、変異型フェロモンを受容できるように変化した受容体を発見する、という 2 つの段階を経て、新規接合型ペアを創る戦略を考えた。フェロモンに関しては、構成する 8 つのアミノ酸を対象に、1 つずつ全ての異なるアミノ酸に網羅的に置換し、合計 152 種の変異体の中から、活性を失った 35 種の変異型フェロモンを作製した。続いて受容体にランダムに突然変異を導入し、65 万個のコロニーを対象としたスクリーニングにより、複数の接合能が回復した組み合わせを発見した。これらは、フェロモンの 5 番目の Val 残基、そして受容体の 204、214 番目の Phe 残基 (いずれも第 6 膜貫通領域に存在)が置換されていた。次に、これらの新規接合型ペアと野生型ペアにそれぞれ異なる薬剤耐性遺伝子を組み込み、異なる組み合わせの二重薬剤耐性クローンの出現頻度を求めた。その結果、人為的に作製した新規生殖群と野生型生殖群間では、遺伝子の交換がほぼ完全に起こらないことを証明した。これは野生型群から生殖隔離された新しい生殖群を人為的に創出した最初の例であり、フェロモン信号系の遺伝的な変化が生殖隔離の一つの原因となる仮説に確かな根拠を与えるだろう。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

生殖隔離が種分化の原因として有力である。性フェロモンの研究では、蛾をはじめとする昆虫の研究がよく知られており、フェロモンと受容体が遺伝的変異により変異して、生殖隔離されるという仮説が提唱されている。申請者らは分裂酵母を用い、野生型生殖群とは交配できない新しい生殖群を作製することで、実験的にこの仮説を証明した。

分裂酵母には 2 つの性 (接合型)が存在し、異性細胞間の融合 (接合)にはペプチドフェロモンが重要な役割を演じている。申請者らは 1)フェロモン M-factor の一次構造を変化させる、2)受容体 Map3 にも変異を導入し、変異型 M-factor を認識できる変異型 Map3 を取得する、という 2 つの段階を経て、新しい生殖群を創る戦略を取った。フェロモンに関しては、構成する 8 つのアミノ酸を 1 つずつ網羅的に置き換え、152 種から活性の失った 35 種の変異型 M-factor を作製した。続いて受容体にはランダムに突然変異を導入し、65 万のスクリーニングにより 3 つの接合能が回復した組み合わせを発見した。野生型ペアとこれらのペアに、それぞれ異なる薬剤耐性遺伝子を組み込み、組み換え頻度を定量化することで、両者間では遺伝子交換が行われていないことを最終的に証明した。これは野生型群から生殖隔離された新しい生殖群を人為的に創出した最初の例であり、フェロモン信号系の遺伝的な変化が生殖隔離の一つの原因となる仮説に確かな根拠を与えうると考えられる。

以上のことから、博士（理学）を授与するのに十分ふさわしいと判断した。